

15.12.2004

日 本 国 特 許 庁
JAPAN PATENT OFFICE

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出 願 年 月 日 2 0 0 3 年 1 2 月 4 日
Date of Application:

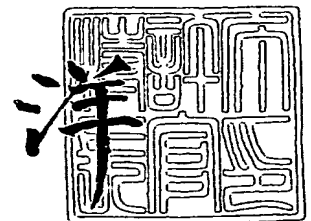
出 願 番 号 特 願 2 0 0 3 - 4 0 5 4 8 0
Application Number:
[ST. 10/C] : [J P 2 0 0 3 - 4 0 5 4 8 0]

出 願 人 松 下 電 器 産 業 株 式 会 社
Applicant(s):

2 0 0 5 年 1 月 2 7 日

特許庁長官
Commissioner,
Japan Patent Office

小 川



【書類名】 特許願
【整理番号】 2892050131
【提出日】 平成15年12月 4日
【あて先】 特許庁長官 殿
【国際特許分類】 G01N 27/26
【発明者】
 【住所又は居所】 愛媛県温泉郡川内町南方 2 1 3 1 番地 1 松下寿電子工業株式会
社内
 【氏名】 藤原 雅樹
【発明者】
 【住所又は居所】 愛媛県温泉郡川内町南方 2 1 3 1 番地 1 松下寿電子工業株式会
社内
 【氏名】 新野 鉄平
【発明者】
 【住所又は居所】 愛媛県温泉郡川内町南方 2 1 3 1 番地 1 松下寿電子工業株式会
社内
 【氏名】 池田 信
【特許出願人】
 【識別番号】 000005821
 【氏名又は名称】 松下電器産業株式会社
【代理人】
 【識別番号】 110000040
 【氏名又は名称】 特許業務法人池内・佐藤アンドパートナーズ
 【代表者】 池内 寛幸
 【電話番号】 06-6135-6051
【手数料の表示】
 【予納台帳番号】 139757
 【納付金額】 21,000円
【提出物件の目録】
 【物件名】 特許請求の範囲 1
 【物件名】 明細書 1
 【物件名】 図面 1
 【物件名】 要約書 1
 【包括委任状番号】 0108331

【書類名】 特許請求の範囲**【請求項 1】**

メディエータの存在下、血液成分を酸化還元酵素で酸化還元し、その際に生じる酸化還元電流を検出し、前記電流値を前記血液成分量に換算する血液成分の測定方法であって、さらに、前記血液成分量の Hct 値による補正工程を含み、前記 Hct 値の測定は、作用電極および対電極を有する電極系を準備し、前記作用電極および前記対電極の少なくとも一方の電極上にはメディエータが配置されていない部分が存在し、前記電極系に血液を導入し、この状態で前記電極系に電圧を印加し、これにより前記作用電極と対電極との間に流れる電流を検出し、この電流値に基づき Hct 値を換算する方法である血液成分の測定方法。

【請求項 2】

前記 Hct 値測定のメディエータが、フェリシアン化物である請求項 1 記載の測定方法。

【請求項 3】

前記フェリシアン化物が、フェリシアン化カリウムである請求項 2 記載の測定方法。

【請求項 4】

前記 Hct 値の測定において、前記対電極のみにメディエータが配置され、前記メディエータがフェリシアン化カリウムである請求項 1 から 3 のいずれかに記載の測定方法。

【請求項 5】

前記 Hct 値の測定における作用電極が、高分子材料で被覆されている請求項 1 から 4 のいずれかに記載の測定方法。

【請求項 6】

前記高分子材料が、カルボキシメチルセルロースである請求項 5 記載の測定方法。

【請求項 7】

前記 Hct 値の測定における前記両電極への印加電圧が、1V 以上である請求項 1 から 6 のいずれかに記載の測定方法。

【請求項 8】

前記 Hct 値による補正は、予め作成した Hct 値と血液成分量との検量線に基く補正である請求項 1 から 7 のいずれかに記載の測定方法。

【請求項 9】

前記血液成分の量を測定した後、Hct 値を測定する請求項 1 から 8 のいずれかに記載の測定方法。

【請求項 10】

前記血液成分の酸化還元電流を検出する電極が、作用電極および対電極を含む請求項 1 から 9 のいずれかに記載の測定方法。

【請求項 11】

さらに、測定環境温度を測定し、これにより前記血液成分量を補正する請求項 1 から 10 のいずれかに記載の測定方法。

【請求項 12】

前記温度による補正が、予め作成した血液の温度と血液成分量との検量線に基く補正である請求項 1 から 11 のいずれかに記載の測定方法。

【請求項 13】

測定対象の血液成分が、グルコース、乳酸、尿酸、ビリルビンおよびコレステロールからなる群から選択される少なくとも一つである請求項 1 から 12 のいずれかに記載の測定方法。

【請求項 14】

測定対象の血液成分がグルコースであり、前記酸化還元酵素が、グルコースオキシターゼおよびグルコースデヒドロゲナーゼの少なくとも一方である請求項 1 から 13 のいずれかに記載の測定方法。

【請求項 15】

血液成分を酸化還元し、その反応による電流を電極で検出することにより前記血液成分を

測定するためのセンサであって、第1の分析部および第2の分析部を有し、前記第1の分析部は、第1の電極系を有し、前記第2の分析部は、第2の電極系を有し、前記第1の電極系上には、少なくとも前記血液成分を基質とする酸化還元酵素とメディエータとが配置され、前記第1の分析部において、メディエータの存在下、血液成分を前記酸化還元酵素で酸化還元し、電圧印加した際に生じる酸化還元電流を前記第1の電極系で検出して前記血液成分を測定し、前記第2の分析部において、前記第2の電極系は、作用電極および対電極を有し、前記作用電極および対電極の少なくとも一方の電極上にメディエータが配置されていない部分が存在し、前記電極系に前記血液を導入し、この状態で前記血液に電圧を印加し、これにより作用電極と対電極の間に流れる電流値を検出することにより前記血液のHct値を測定するセンサ。

【請求項16】

測定されたHct値に基づき血液成分の量が補正可能な請求項15記載のセンサ。

【請求項17】

前記第2の電極系のメディエータが、フェリシアン化物である請求項15または16記載のセンサ。

【請求項18】

前記フェリシアン化物が、フェリシアン化カリウムである請求項17記載のセンサ。

【請求項19】

前記第2の電極系において、前記対電極のみにメディエータが配置され、前記メディエータがフェリシアン化カリウムである請求項17または18記載のセンサ。

【請求項20】

前記第2の電極系において、前記作用電極が、高分子材料で被覆されている請求項15から19のいずれかに記載のセンサ。

【請求項21】

前記高分子材料が、カルボキシメチルセルロースである請求項20記載のセンサ。

【請求項22】

前記第2の電極系において、前記印加電圧が、1V以上である請求項15から21のいずれかに記載のセンサ。

【請求項23】

前記第1の電極系は、作用電極と対電極を有する請求項15から22のいずれかに記載のセンサ。

【請求項24】

前記第1の電極系および第2の電極系において、前記第1の電極系に包含される、いずれか、あるいは全ての電極が前記第2の電極系の対電極を兼ねる請求項23記載のセンサ。

【請求項25】

前記第1の電極系および第2の電極系において、前記第1の電極系の前記作用電極のみが前記第2の電極系の対電極を兼ねる請求項24記載のセンサ。

【請求項26】

前記第1の電極系上に配置されたメディエータが、フェリシアン化物である請求項15から25のいずれかに記載のセンサ。

【請求項27】

前記フェリシアン化物が、フェリシアン化カリウムである請求項26記載のセンサ。

【請求項28】

さらに、絶縁基板を有し、この上に第1の分析部および第2の分析部と、前記各分析部に血液を導入するための流路とが形成され、前記流路の一端は、センサ外部に開口して血液供給口となっている請求項15から27のいずれかに記載のセンサ。

【請求項29】

前記血液供給口は一つであり、前記流路は、その途中で分岐しており、分岐した各流路の端部は前記各分析部に連通している請求項28記載のセンサ。

【請求項30】

前記流路の途中に第 2 の分析部が位置し、その後方に第 1 の分析部が位置している請求項 28 記載のセンサ。

【請求項 31】

さらに、スペーサーおよびカバーを有し、前記絶縁基板の上に、前記スペーサーを介して前記カバーが配置されている請求項 28 から 30 のいずれかに記載のセンサ。

【請求項 32】

測定対象の血液成分が、グルコース、乳酸、尿酸、ビリルビンおよびコレステロールからなる群から選択される少なくとも一つである請求項 15 から 31 のいずれかに記載のセンサ。

【請求項 33】

測定対象の血液成分がグルコースであり、前記酸化還元酵素が、グルコースオキシターゼおよびグルコースデヒドロゲナーゼの少なくとも一方である請求項 15 から 31 のいずれかに記載のセンサ。

【請求項 34】

第 1 の電極系上に、さらに高分子材料、酵素安定化剤および結晶均質化剤が配置されている請求項 15 から 33 のいずれかに記載のセンサ。

【請求項 35】

さらに、液絡検知電極を有し、この液絡検知電極は、前記血液供給口から前記各分析部の少なくとも一つよりも後方に位置し、この液絡検知電極により、前記各分析部の少なくとも一つに血液が導入されたことを検知可能である請求項 15 から 34 のいずれかに記載のセンサ。

【書類名】 明細書

【発明の名称】 血液成分の測定方法およびそれに用いるセンサ

【技術分野】

【0001】

本発明は、血液成分の測定方法およびそれに用いるセンサに関する。

【背景技術】

【0002】

臨床検査や糖尿病患者の血糖値自己測定等において、血液成分測定用センサが従来から使用されている。血液成分測定用センサは、例えば、その表面に作用電極および対電極が形成された絶縁基板の上に、スペーサーを介してカバーが配置されている構成である。前記作用電極および対電極の上には、酸化還元酵素およびメディエータ（電子伝達体）等を含む試薬が配置されており、この部分が分析部となる。この分析部には、血液を導入するための流路の一端が連通しており、前記流路の他端は外部に向かって開口しており、ここが血液供給口となる。このようなセンサを用いた血液成分の分析（例えば、血糖値）は、例えば、次のようにして行われる。すなわち、まず、前記センサを専用の測定装置（メータ）にセットする。そして、指先等をランセットで傷つけて出血させ、これに前記センサの血液供給口を接触させる。血液は、毛細管現象によりセンサの流路に吸い込まれ、これを通して分析部に導入され、ここで、前記試薬と接触する。そして、血液中の成分と、酸化還元酵素が反応して酸化還元反応が起こり、これによりメディエータを介して電流が流れる。この電流を検出し、前記測定装置で血液成分量に換算して表示する。

【0003】

上記のようにして、センサを用いて血液成分を測定することができるが、その測定値は、ヘマトクリット（Hct）の影響を受ける場合があるので、正しい測定値を得るためには、Hct値を測定し、この値から血液成分量を補正する必要がある。例えば、2つの作用電極と、1つの参照電極とによるHct値の測定により、血液成分量を補正するセンサがある（特許文献1参照）。この他に、メディエータを用いてHct値を測定する方法もある（特許文献2参照）。しかしながら、従来の技術では、測定されるHct値の精度および信頼性に問題があり、十分な補正ができなかった。

【特許文献1】 特表2003-501627号公報

【特許文献2】 特許第3369183号公報

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0004】

本発明は、このような事情に鑑みなされたもので、Hct値を高精度および高信頼性で測定することにより血液成分量を正確に補正可能な血液成分の測定方法およびそれに用いるセンサの提供を、その目的とする。

【課題を解決するための手段】

【0005】

前記目標を達成するために、本発明の測定方法は、メディエータの存在下、血液成分を酸化還元酵素で酸化還元し、その際に生じる酸化還元電流を検出し、前記電流値を前記血液成分量に換算する血液成分の測定方法であって、さらに、前記血液成分量のHct値による補正工程を含み、前記Hct値の測定は、作用電極および対電極を有する電極系を準備し、前記作用電極および前記対電極の少なくとも一方の電極上にメディエータが配置されていない部分が存在し、前記電極系に血液を導入し、この状態で前記電極系に電圧を印加し、これにより前記作用電極と対電極との間に流れる電流を検出し、この電流値に基づきHct値を換算する方法であることを特徴とする。

【0006】

また、血液成分を酸化還元し、その反応による電流を電極で検出することにより前記血液成分を測定するためのセンサであって、第1の分析部および第2の分析部を有し、前記第1の分析部は、第1の電極系を有し、前記第2の分析部は、第2の電極系を有し、前記

第1の電極系上には、少なくとも前記血液成分を基質とする酸化還元酵素とメディエータとが配置され、前記第1の分析部において、メディエータの存在下、血液成分を前記酸化還元酵素で酸化還元し、電圧印加した際に生じる酸化還元電流を前記第1の電極系で検出して前記血液成分を測定し、前記第2の分析部において、前記第2の電極系は、作用電極および対電極を有し、前記作用電極および対電極の少なくとも一方の電極上にメディエータが配置されていない部分が存在し、前記電極系に前記血液を導入し、この状態で前記血液に電圧を印加し、これにより作用電極と対電極の間に流れる電流値を検出することにより前記血液のHct値を測定するセンサである。

【発明の効果】

【0007】

本発明の血液成分の測定方法およびセンサでは、Hct値を高精度かつ高信頼性で測定できるHct値の測定方法若しくはHct値測定のための第2分析部を採用しているため、これを基に血液成分量を正確に補正できる。このため本発明では、前記両電極間では血液のHct値にのみ依存した信頼性ある電流値が得られ、また電極系にあるメディエータによって前記電流値を高感度で検出することができ、測定精度に優れ、しかもその測定は簡単に行うことができる。

【発明を実施するための最良の形態】

【0008】

つぎに、本発明を詳しく説明する。

【0009】

本発明の血液成分の測定方法およびセンサにおいて、前記Hct値の測定若しくは第2の分析部におけるメディエータは、特に制限されず、例えば、フェリシアン化物、p-ベンゾキノン、p-ベンゾキノン誘導体、フェナジンメトサルフェート、メチレンブルー、フェロセン、フェロセン誘導体があげられる。この中で、フェリシアン化物が好ましく、より好ましくはフェリシアン化カリウムである。前記メディエータの配合量は、特に制限されず、1回の測定当たり若しくはセンサ1個当たり、例えば、0.1～1000mMであり、好ましくは1～500mMであり、より好ましくは、10～200mMである。

【0010】

本発明の血液成分の測定方法およびセンサにおいて、不純物の付着防止および酸化防止等の目的で、前記Hct値の測定方法および第2の分析部の作用電極は、高分子材料により被覆されていることが好ましい。前記高分子材料としては、例えば、カルボキシメチルセルロース(CMC)、ヒドロキシエチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、メチルセルロース、エチルセルロース、エチルヒドロキシエチルセルロース、カルボキシエチルセルロース、ポリビニルアルコール、ポリビニルピロリドン、ポリジン等のポリアミノ酸、ポリスチレンスルホン酸、ゼラチンおよびその誘導体、ポリアクリル酸およびその塩、ポリメタクリル酸およびその塩、スターチおよびその誘導体、無水マレイン酸重合体およびその塩、アガロースゲルおよびその誘導体、などがあげられる。これらは、単独で使用してもよいし、2種類以上で併用してもよい。高分子材料による作用電極の被覆は特に制限されず、例えば、高分子材料溶液を準備し、これを作用電極表面に塗布し、ついで乾燥させて前記塗膜中の溶媒を除去すればよい。

【0011】

本発明の血液成分の測定方法およびセンサにおいて、前記Hct値の測定および第2の分析部の前記作用電極と対電極の間の印加電圧が、1V以上であるのが好ましく、より好ましくは1～10Vの範囲、さらに好ましくは1～5Vの範囲である。また、印加時間は、例えば、0.001～60秒、好ましくは0.01～10秒、より好ましくは0.01～5秒である。

【0012】

本発明の血液成分の測定方法およびセンサにおいて、前記Hct値の測定および第2の分析部における前記作用電極と対電極の間の最近接距離が、0.05mm以上であるのが好ましい。このように0.05mm以上の電極間距離があれば、測定値の信頼性が向上す

る。また第2の分析部において、前記作用電極および前記対電極の少なくとも一方の電極上に、メディエータが存在しない部分が存在することが好ましい。更に、前記作用電極上にメディエータが配置されていない部分があることが好ましく、より好ましくは、前記作用電極上にメディエータが全く配置されていないことである。

【0013】

本発明の血液成分の測定方法において、前記Hct値による補正は、予め作成したHct値と血液成分量との検量線に基く補正であることが好ましい。

【0014】

本発明の血液成分の測定方法において、血液成分の測定とHct値の測定順序は特に制限されないが、後述のように、電極を共有する場合は、まず血液成分を測定してから、その後、Hct値を測定することが好ましい。すなわち、血液成分測定における作用電極が、Hct値測定では対電極として使用される場合である。この電極には、最初は酸化状態のメディエータ（例えば、フェリシアン化カリウム）が配置されている。これが血液成分の測定によって酵素反応により一旦還元され、血液成分測定のために再び酸化される。故に血液成分測定後の該電極界面には、フェリシアン化イオンが支配的に存在する。一方、対極での電解還元反応が律速過程になることを抑制するために、Hct測定における対極近傍には多量のフェリシアン化イオンが存在することが好ましい。よって、血液成分測定時の作用極を、その測定後にHct測定における対極として併用することが好適である。

【0015】

本発明の血液成分の測定方法において、前記酸化還元電流を検出する電極系は、作用電極および対電極を含むことが好ましい。

【0016】

本発明の血液成分の測定方法において、さらに、前記測定環境温度を測定し、これにより前記血液成分量を補正することが好ましい。酵素反応は、その環境温度に影響されるからである。この場合、前記温度による補正は、予め作成した検量線に基く補正であることが好ましい。

【0017】

本発明の血液成分の測定方法およびセンサにおいて、測定対象の血液成分は、例えば、グルコース、乳酸、尿酸、ビリルビンおよびコレステロール等である。また、前記酸化還元酵素は、測定対象の血液成分に応じ適宜選択される。前記酸化還元酵素としては、例えば、グルコースオキシダーゼ、ラクテートオキシダーゼ、コレステロールオキシダーゼ、ビリルビンオキシダーゼ、グルコースデヒドロゲナーゼ、ラクテートデヒドロゲナーゼなどがある。前記酸化還元酵素の量は、例えば、センサ1個当たり、若しくは1回の測定当たり、例えば、0.01～100Uであり、好ましくは、0.05～10Uであり、より好ましくは、0.1～5Uである。このなかでも、グルコースを測定対象にすることが好ましく、この場合の酸化還元酵素は、グルコースオキシダーゼおよびグルコースデヒドロゲナーゼが好ましい。

【0018】

本発明の血液成分測定用センサにおいて、前記第1の電極系は、作用電極と対電極を有することが好ましい。さらに、本発明のセンサにおいて、前記第1の電極系および第2の電極系において、前記第1の電極系に包含される、いずれか、あるいは全ての電極が前記第2の電極系の対電極を兼ねることが好ましい。より好ましくは、前記第1の電極系および第2の電極系において、前記第1の電極系の前記作用電極のみが前記第2の電極系の対電極を兼ねることである。

【0019】

本発明の血液成分測定用センサにおいて、前記第1の電極系上に配置されたメディエータは、特に制限されず、例えば、フェリシアン化物、p-ベンゾキノン、p-ベンゾキノン誘導体、フェナジンメトサルフェート、メチレンブルー、フェロセン、フェロセン誘導体などがあげられる。この中で、フェリシアン化物が好ましく、より好ましくはフェリシアン化カリウムである。前記メディエータの配合量は、特に制限されず、1回の測定当たり若し

くはセンサ1個当り、例えば、0.1~1000mMであり、好ましくは1~500mMであり、より好ましくは、10~200mMである。

【0020】

本発明の血液成分測定用センサは、さらに、絶縁基板を有し、この上に第1の分析部および第2の分析部と、前記各分析部に血液を導入するための流路とが形成され、前記流路の一端は、センサ外部に開口して血液供給口となっていることが好ましい。この場合、前記血液供給口は一つであり、前記流路は、その途中で分岐しており、分岐した各流路の端部は前記各分析部に連通している構成であってもよい。その他、前記流路の途中に第2の分析部が位置し、その後方に第1の分析部が位置している構成であってもよい。

【0021】

本発明の血液成分測定用センサは、さらに、スペーサーおよびカバーを有し、前記絶縁基板の上に、前記スペーサーを介して前記カバーが配置されている構成が好ましい。

【0022】

本発明の血液成分測定用センサにおいて、測定対象の血液成分は、前述のものであり、酸化還元酵素も前述のものであり、使用量も前述と同様である。また、測定対象血液成分として、グルコースが好ましく、前記酸化還元酵素は、グルコースオキシダーゼおよびグルコースデヒドロゲナーゼが好ましい。

【0023】

本発明の血液成分測定用センサにおいて、第1の電極系上に、さらに、高分子材料、酵素安定化剤および結晶均質化剤が配置されていることが好ましい。

【0024】

前記高分子材料は、電極表面への不純物の付着や電極表面の酸化を防止し、電極表面を保護する。前記高分子材料としては、例えば、CMC、ヒドロキシエチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、メチルセルロース、エチルセルロース、エチルヒドロキシエチルセルロース、カルボキシエチルセルロース、ポリビニルアルコール、ポリビニルピロリドン、ポリジン等のポリアミノ酸、ポリスチレンスルホン酸、ゼラチンおよびその誘導体、ポリアクリル酸およびその塩、ポリメタクリル酸およびその塩、スターチおよびその誘導体、無水マレイン酸重合体およびその塩、アガロースゲルおよびその誘導体、などがあげられる。これらは、単独で使用してもよいし、2種類以上で併用してもよい。この中で、好ましいのは、CMCである。前記高分子材料の割合は、試薬部を作製するための試薬液全体に対し、例えば、0.001~10重量%であり、好ましくは、0.005~5重量%であり、より好ましくは0.01~2重量%である。

【0025】

前記酵素安定化剤としては、例えば、糖アルコールがあげられる。前記糖アルコールとしては、例えば、ソルビトール、マルチトール、キシリトール、マンニトール、ラクチトール、還元パラチノース、アラビニトール、グリセロール、リビトール、ガラクトクトール、セドヘプチトール、ペルセイトール、ボレミトール、スチラシトール、ポリガリトール、イジトール、タリトール、アリトール、イシリトール、還元澱粉糖化物、イシリトールなどの鎖状の多価アルコールや環式糖アルコールがあげられる。また、これらの糖アルコールの立体異性体、置換体または誘導体であってもよい。これらの糖アルコールは、単独で使用してもよいし、2種類以上で併用してもよい。これらの中で、好ましいのは、マルチトールである。前記酵素安定化剤の配合量は、1回の測定当り若しくは1センサ当り、例えば、0.1~500mMの範囲であり、好ましくは、0.5~100mMの範囲であり、より好ましくは1~50mMの範囲である。

【0026】

前記結晶均質化剤は、試薬部の結晶状態を均質にするためのものであり、例えば、アミノ酸があげられる。前記アミノ酸としては、例えば、グリシン、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、セリン、トレオニン、メチオニン、アスパラギン、グルタミン、アルギニン、リシン、ヒスチジン、フェニルアラニン、トリプトファン、プロリン、サルコシン、ペタイン、タウリン、これらの塩、置換体および誘導体があげられる。これらは、

単独で使用してもよいし、2種類以上で併用してもよい。これらのなかで、グリシン、セリン、プロリン、トレオニン、リシン、タウリンが好ましく、より好ましくは、タウリンである。前記結晶均質化剤の配合量は、1回の測定当り若しくは1センサ当り、例えば、0.1~1000mMであり、好ましくは、10~500mMであり、より好ましくは20~200mMである。

【0027】

本発明の血液成分測定用センサは、さらに、液絡検知電極を有し、この液絡検知電極は、前記血液供給口から前記各分析部の少なくとも一つよりも後方に位置し、この液絡検知電極により、前記各分析部の少なくとも一つに血液が導入されたことが検知可能であることが好ましい。

【0028】

つぎに、本発明の血液成分測定用センサの実施例について、図面に基づき説明する。

【実施例1】

【0029】

図1、図2および図3に、本発明の血液成分測定用センサの一例を示す。図1は、前記センサの分解斜視図であり、図2は断面図であり、図3は平面図であり、前記三図において、同一部分には同一符号を付している。

【0030】

図示のように、このセンサは、絶縁基板101の上に、3個の電極11、12および13が形成されている。これらの電極は、作用電極と対電極に切り換え可能である。電極13の表面は、CMC等の高分子材料で被覆されている。電極11および12が形成する電極部には試薬層14が配置されている。試薬層14は、グルコースデヒドロゲナーゼ等の酸化還元酵素、メディエータを含み、任意成分として、高分子材料、酵素安定化剤、結晶均質化剤を含む。これらの試薬の種類や配合割合は、前述のとおりである。前記絶縁基板101の上には、一方の端部（図において右側端部）を残してスペーサー102を介しカバー103が配置されている。このセンサには、電極13および電極11、12に血液を導入するための流路15が形成されている。この流路15は、途中から分岐したT字形状であり、各分岐端は、前記各電極部に連通しており、また前記流路の先端は、センサの他方の端部（図において左側端部）まで延びており、外部に対し開口して、血液供給口となっている。前記の3個の電極11、12および13は、それぞれリードと連結し、これらのリードは、前記一方の端部側に延びており、リードの先端はカバーに覆われずに露出している。前記カバー103の流路15の分岐端に対応する部分には、毛細管現象を強化するための2つの空気抜孔16が形成されている。

【0031】

本発明において、前記絶縁基板の材質は特に制限されず、例えば、ポリエチレンテレフタレート（PET）、ポリカーボネート（PC）、ポリイミド（PI）、ポリエチレン（PE）、ポリプロピレン（PP）、ポリスチレン（PS）、ポリ塩化ビニル（PVC）、ポリオキシメチレン（POM）、モノマーキャストナイロン（MC）、ポリブチレンテレフタレート（PBT）、メタクリル樹脂（PMMA）、ABS樹脂（ABS）、ガラス等が使用でき、このなかで、ポリエチレンテレフタレート（PET）、ポリカーボネート（PC）、ポリイミド（PI）が好ましく、より好ましくは、ポリエチレンテレフタレート（PET）である。絶縁基板の大きさは、特に制限されず、例えば、全長5~100mm、幅2~50mm、厚み0.05~2mmであり、好ましくは、全長7~50mm、幅3~20mm、厚み0.1~1mmであり、より好ましくは、全長10~30mm、幅3~10mm、厚み0.1~0.6mmである。

【0032】

絶縁基板上の電極およびリードは、例えば、金、白金、パラジウム等を材料として、スパッタリング法あるいは蒸着法により導電層を形成し、これをレーザーにより特定の電極パターンに加工することで形成できる。レーザーとしては、例えば、YAGレーザー、CO₂レーザー、エキシマレーザー等が使用できる。電極13の表面の被覆は、例えば、高

分子材料の溶液を調製し、これを前記電極表面に滴下若しくは塗布し、ついで乾燥させることにより実施できる。乾燥は、例えば、自然乾燥、風乾、熱風乾燥、加熱乾燥などがある。

【0033】

前記試薬部14は、例えば、0.01~2.0wt% CMC水溶液に、PQQ-GDHを0.1~5.0U/センサ、フェリシアン化カリウムを10~200mM、マルチトールを1~50mM、タウリンを20~200mM添加して溶解させて試薬溶液を調製し、これを、前記基板の電極11および12の上に滴下し、乾燥させることで形成できる。前記乾燥は、例えば、自然乾燥でも温風を用いた強制乾燥でもよいが、高温過ぎると酵素が失活するおそれがあるから、50℃前後の温風が好ましい。

【0034】

つぎに、本発明において、スペーサーの材質は、特に制限されず、例えば、絶縁基板と同様の材料が使用できる。また、スペーサーの大きさは、特に制限されず、例えば、全長5~100mm、幅2~50mm、厚み0.01~1mmであり、好ましくは、全長7~50mm、幅3~20mm、厚み0.05~0.5mmであり、より好ましくは、全長10~30mm、幅3~10mm、厚み0.05~0.25mmである。スペーサーには、血液導入のための流路となるT字形の切り欠き部が形成されているが、その大きさは、例えば、血液供給口から分岐部までの長さ0.5~20mm、分岐部から分岐端までの長さ1~25mm、幅0.1~5mm、好ましくは、血液供給口から分岐部までの長さ1~10mm、分岐部から分岐端までの長さ1.5~10mm、幅0.2~3mm、より好ましくは、血液供給口から分岐部までの長さ1~5mm、分岐部から分岐端までの長さ1.5~5mm、幅0.5~1mmである。この切り欠き部は、例えば、レーザーやドリル等で穿孔して形成してもよいし、スペーサーの形成時に、切り欠き部が形成できるような金型を使用して形成してもよい。

【0035】

つぎに、本発明において、カバーの材質は、特に制限されず、例えば、絶縁基板と同様の材料が使用できる。カバーの試料供給路の天井部に相当する部分は、親水性処理することが、更に好ましい。親水性処理としては、例えば、界面活性剤を塗布する方法、プラズマ処理などによりカバー表面に水酸基、カルボニル基、カルボキシル基などの親水性官能基を導入する方法がある。カバーの大きさは、特に制限されず、例えば、全長5~100mm、幅3~50mm、厚み0.01~0.5mmであり、好ましくは、全長10~50mm、幅3~20mm、厚み0.05~0.25mmであり、より好ましくは、全長15~30mm、幅5~10mm、厚み0.05~0.1mmである。カバーには、空気抜孔が形成されていることが好ましく、形状は、例えば、円形、楕円形、多角形などであり、その大きさは、例えば、最大直径0.01~10mm、好ましくは、最大直径0.05~5mm、より好ましくは、最大直径0.1~2mmである。この空気抜孔は、例えば、レーザーやドリル等で穿孔して形成してもよいし、カバーの形成時に、空気抜き部が形成できるような金型を使用して形成してもよい。

つぎに、このセンサは、絶縁基板、スペーサーおよびカバーをこの順序で積層し、一体化することにより製造できる。一体化には、前記3つの部材を接着剤で貼り付けたり、若しくは熱融着してもよい。前記接着剤としては、例えば、エポキシ系接着剤、アクリル系接着剤、ポリウレタン系接着剤、また熱硬化性接着剤（ホットメルト接着剤等）、UV硬化性接着剤等が使用できる。

【0036】

このセンサを用いた血糖値測定は、例えば、次のようにして実施される。すなわち、まず、専用のランセットで指先等を穿刺し、出血させる。一方、前記センサを専用の測定装置（メータ）にセットする。そして、出血した血液に、測定装置にセットしたセンサの血液供給口を接触させ、毛細管現象により、血液をセンサ内部に導入させる。そして、このセンサによる分析は、つぎのステップにより行われる。

（ステップ1：検体（血液）の検知）

電極 11、電極 13 の両電極間に電圧を印加することにより、血液の導入を検知する。血液の導入を確認したら、以降のステップを開始する。ステップ 1 での印加電圧および印加時間は、例えば、0.05～1V、好ましくは 0.1～0.8V、より好ましくは 0.2～0.5V であり、印加時間は、例えば、0.001～10 秒、好ましくは 0.01～5 秒、より好ましくは 0.01～1 秒である。

(ステップ 2: グルコースの測定)

血液中のグルコースとグルコース酸化還元酵素とを一定時間反応させた後、電極 11 を作用電極、電極 12 を対電極とし、前記両電極に電圧を印加し、酵素反応により電極 11 の上に生じた還元状態のメディエータを酸化し、その酸化電流を検出する。前記グルコースと酸化還元酵素との反応時間は、例えば、0～60 秒、好ましくは 1～30 秒、より好ましくは 2～10 秒である。ステップ 2 での印加電圧および印加時間は、例えば、0.05～1V、好ましくは 0.1～0.8V、より好ましくは 0.2～0.5V であり、印加時間は、例えば、0.01～30 秒、好ましくは 0.1～10 秒、より好ましくは 1～5 秒である。

(ステップ 3: Hct 値の測定)

電極 13 を作用電極、電極 11 を対電極として、前記両電極に電圧を印加することにより、血液成分の電解酸化反応に基づく Hct 値に依存する電流が検出でき、これに基づき Hct 値を測定する。この Hct 値は、グルコース測定時の補正に使用される。この補正では、予め作成された電流と Hct 値との検量線から求めた Hct 値を使用してもよいし、検出された電流をそのまま使用してもよい。ステップ 3 での印加電圧および印加時間は、例えば、1～10V、好ましくは 1～5V、より好ましくは 2～3V であり、印加時間は、例えば、0.001～60 秒、好ましくは 0.01～10 秒、より好ましくは 0.01～5 秒である。このステップにおいて、電極 13 と電極 11 との間は一定の間隙があり、この間隙にはメディエータなど試薬が配置されておらず血液のみ存在するので、試薬の影響を受けることなく Hct 値に依存した酸化電流が検出できる。このステップ 3 は、ステップ 2 の終了後に実施されることが好ましい。また、対電極は、この例では電極 11 としたが、電極 12 を対電極としても測定は可能である。電極 11 および 12 の双方を対電極としてもよい。

(ステップ 4: 血液成分の補正)

ステップ 3 で検出した Hct 値により、ステップ 2 で得られたグルコース量を補正する。この補正は、予め作成した検量線（検量テーブルを含む）に基づき行うことが好ましい。補正されたグルコース量は、測定装置に表示若しくは記憶される。

【実施例 2】

【0037】

図 4、図 5 および図 6 に、本発明の血液成分測定用センサのその他の例を示す。図 4 は、前記センサの分解斜視図であり、図 5 は断面図であり、図 6 は平面図であり、前記三図において、同一部分には同一符号を付している。

【0038】

図示のように、このセンサは、絶縁基板 201 の上に、4 個の電極 21、22、23 および 24 が形成されている。これらの電極は、作用電極と対電極に切り換え可能である。電極 24 の表面は、前述のようにして高分子材料で被覆されている。電極 21、22 および 23 が形成する電極部には試薬層 25 が配置されている。試薬層 25 は、グルコースデヒドロゲナーゼ等の酸化還元酵素、メディエータを含み、任意成分として、高分子材料、酵素安定化剤、結晶均質化剤を含む。これらの試薬の種類や配合割合は、前述のとおりである。前記絶縁基板 201 の上には、一方の端部（図において右側端部）を残してスペーサー 202 を介しカバー 203 が配置されている。このセンサには、前記試薬部 25 に血液を導入するための流路 26 が形成されている。この流路 26 は、一直線（I 字形状）であり、また前記流路の先端は、センサの他方の端部（図において左側端部）まで延びており、外部に対し開口して、血液供給口となっている。前記 4 個の電極は、前記流路に直列に並んでおり、血液供給口側から、電極 22 は最も後方に位置している。前記の 4 個の電

極 21、22、23 および 24 は、それぞれリードと連結し、これらのリードは、前記一方の端部側に延びており、リードの先端はカバーに覆われずに露出している。前記カバー 203 の流路 26 の後方に対応する部分には、毛細管現象を強化するための空気抜孔 27 が形成されている。

【0039】

この例において、前記絶縁基板の材質および大きさ等は、特に制限されず、実施例 1 と同様である。また、電極、リード、高分子材料による電極表面の被覆および試薬部も実施例 1 と同様である。そして、スパーサーの材質、大きさおよび加工方法も実施例 1 と同様である。この例のスパーサーには、血液導入のための流路となる I 字形の切り欠き部が形成されているが、その大きさは、例えば、全長 0.5~8 mm、幅 0.1~5 mm、好ましくは、全長 1~10 mm、幅 0.2~3 mm、より好ましくは、全長 1~5 mm、幅 0.5~2 mm である。この切り欠き部は、例えば、レーザーやドリル等で穿孔して形成してもよいし、スパーサーの形成時に、切り欠き部が形成できるような金型を使用して形成してもよい。カバーの材質、大きさ、親水性処理および空気抜き孔も、実施例 1 と同様である。そして、この例のセンサの製造方法も実施例 1 と同様である。

【0040】

このセンサを用いた血糖値測定は、例えば、次のようにして実施される。すなわち、まず、専用のランセットで指先等を穿刺し、出血させる。一方、前記センサを専用の測定装置（メータ）にセットする。そして、出血した血液に、測定装置にセットしたセンサの血液供給口を接触させ、毛細管現象により、血液をセンサ内部に導入させる。そして、このセンサによる分析は、つぎのステップにより行われる。

（ステップ 1：検体（血液）の検知）

電極 24、電極 22 の両電極間に電圧を印加することにより、血液が、流路の端まで導入されたかを検知する。血液が流路の端まで導入されたことを確認したら、以降のステップを開始する。また、流路の端まで導入されない場合は、検体量不足となり、測定装置はエラーを表示することになる。ステップ 1 での印加電圧および印加時間は、例えば、0.05~1 V、好ましくは 0.1~0.8 V、より好ましくは 0.2~0.5 V であり、印加時間は、例えば、0.001~10 秒、好ましくは 0.01~5 秒、より好ましくは 0.01~1 秒である。

（ステップ 2：グルコースの測定）

血液中のグルコースとグルコース酸化還元酵素とを一定時間反応させた後、電極 21 を作用電極、電極 23 を対電極として、前記両電極に電圧を印加し、酵素反応により電極 21 の上に生じた還元状態のメディエータを酸化し、その酸化電流を検出する。前記グルコースと酸化還元酵素との反応時間は、例えば、0~60 秒、好ましくは 1~30 秒、より好ましくは 2~10 秒である。ステップ 2 での印加電圧および印加時間は、例えば、0.05~1 V、好ましくは 0.1~0.8 V、より好ましくは 0.2~0.5 V であり、印加時間は、例えば、0.01~30 秒、好ましくは 0.1~10 秒、より好ましくは 1~5 秒である。

（ステップ 3：Hct 値の測定）

電極 24 を作用電極、電極 21 を対電極として、前記両電極に電圧を印加することにより、Hct 値に依存する電流が検出でき、これに基づき Hct 値を測定する。この Hct 値は、グルコース測定時の補正に使用される。この補正では、予め作成された電流と Hct 値との検量線から求めた Hct 値を使用してもよいし、検出された電流をそのまま使用してもよい。ステップ 3 での印加電圧および印加時間は、例えば、1~10 V、好ましくは 1~5 V、より好ましくは 2~3 V であり、印加時間は、例えば、0.001~60 秒、好ましくは 0.01~10 秒、より好ましくは 0.01~5 秒である。このステップにおいて、電極 24 と電極 21 との間は一定の間隙があり、この間隙にはメディエータなど試薬が配置されておらず血液のみ存在するので、試薬の影響を受けることなく Hct 値に依存した酸化電流が検出できる。このステップ 3 は、ステップ 2 の終了後に実施されることが好ましい。なお、この例では、電極 21 単独で対電極としたが、本発明はこれには限定

されず、電極 23 単独、電極 22 単独、電極 21 と電極 22 の組み合わせ、電極 21 と電極 23 の組み合わせ、電極 22 と電極 23 の組み合わせ、電極 21 と電極 22 と電極 23 の組み合わせを、それぞれ対電極としてもよい。

(ステップ 4: 血液成分の補正)

ステップ 3 で検出した Hct 値により、ステップ 2 で得られたグルコース量を補正する。この補正は、予め作成した検量線 (検量テーブルを含む) に基づき行うことが好ましい。補正されたグルコース量は、測定装置に表示若しくは記憶される。

(参考例 1)

図 7 に示す構造の Hct 値測定用のセンサを作成した。図示のように、このセンサは、絶縁基板 801 の上に作用電極 81 および対電極 82 を直線上に並べて形成し、この上に、I 字上の切り欠き部 (流路形成用) 84 を有するスペーサ 802 を介してカバー 803 を配置し、前記三者を一体化したものである。同図において、83 は、実施例 1 および 2 にて用いたメディエータ (フェロシアン化カリウム) であり、85 は、毛細管現象の強化のための空気抜き孔である。前記センサにおいて、前記作用電極は、CMC により被覆した。試薬層 83 は、フェリシアン化カリウム (量: 60 mM)、タウリン (80 mM)、を、CMC 水溶液 (0.1 wt%) に溶解して調製した試薬液を前記対電極 82 上に滴した後、乾燥させることにより作製した。他方、Hct 値が、25、45 および 65 に調整した、3 種類の血液試料を準備した。これら 3 つの血液試料について、前記センサにより、印加電圧 2.5 V、印加時間 3 秒の条件で、センサの前記両電極に流れる電流を測定した。その結果を、図 8a および図 8b のグラフに示す。図 8a は、印加電圧 (V) に対する応答電流値 (μA) の経時的変化を表すグラフであり、図 8b は、印加電圧 (V) に対する感度差の経時変化のグラフである。前記両図に示すように、このセンサによれば、Hct 値を反映した応答電流を検出することができた。

(参考比較例 1)

前記参考例のセンサにおいて、0.01~2.0 wt% CMC 水溶液に、フェリシアン化カリウム 10~200 mM、フェリシアン化カリウムの約 7 分の 1 の濃度のフェロシアン化カリウム、タウリン 10~300 mM を溶解させて試薬溶液を調整し、これを、作用電極 81 および対電極 82 の両電極上および両電極間に滴下し、乾燥させた。これ以外は、前記参考例と同じ条件で、3 つの Hct 値の前記試料について、センサの前記両電極に流れる電流を測定した。その結果を、図 9a および図 9b のグラフに示す。図 9a は、印加電圧 (V) に対する応答電流値 (μA) の経時的変化を表すグラフであり、図 9b は、印加電圧 (V) に対する感度差の経時変化のグラフである。図示のように、この参考比較例 1 では、その感度差が電圧印加時間の影響を大きく受けており、Hct の定量に適した応答電流を得るに至らなかった。

(参考比較例 2)

前記参考例のセンサにおいて、0.01~2.0 wt% CMC 水溶液に、フェリシアン化カリウム 10~200 mM、タウリン 10~300 mM を溶解させて試薬溶液を調整し、これを、作用電極 81 および対電極 82 の両電極上および両電極間に滴下し、乾燥させた。これ以外は、前記参考例と同じ条件で、3 つの Hct 値の前記試料について、センサの前記両電極に流れる電流を測定した。その結果を、図 10a および図 10b のグラフに示す。図 10a は、印加電圧 (V) に対する応答電流値 (μA) の経時的変化を表すグラフであり、図 10b は、印加電圧 (V) に対する感度差の経時変化のグラフである。図示のように、この参考比較例 2 においても、その感度差が電圧印加時間の影響を大きく受けており、Hct の定量に適した応答電流を得るに至らなかった。

【0041】

本実施例では、血液成分測定の一例としてグルコース濃度の測定について述べたが、それに限定されるものではない。既に述べたが、乳酸、コレステロールのような他血液成分の測定にも有用である。また、本願にて述べた測定法およびセンサでは、センサ較正用の標準液と血液との判別も容易である。Hct 測定において、前記標準液は血球成分を含まないために、血液を用いた場合に比べてより大きな電流応答が得られる。この結果に基づ

き、血液と標準液を判別するものである。

【産業上の利用可能性】

【0042】

本発明の血液成分の測定方法およびこれに用いるセンサは、Hct値を高精度かつ高信頼性で測定し、これを基に血液成分量を補正するため、血液成分の測定を高精度かつ高信頼度で実施できる。したがって、本発明は、グルコース等の血液成分の測定に有用である。

。

【図面の簡単な説明】

【0043】

【図1】図1は、本発明のセンサの一例を示す分解斜視図である。

【図2】図2は、前記センサの断面図である。

【図3】図3は、前記センサの平面図である。

【図4】図4は、本発明のセンサのその他の例を示す分解斜視図である。

【図5】図5は、前記センサの断面図である。

【図6】図6は、前記センサの平面図である。

【図7】図7は、Hct値測定用のセンサの一例を示す分解斜視図である。

【図8】図8aは、Hct値測定用のセンサの一例における印加電圧(V)に対する応答電流値(μA)の経時的変化を表すグラフである。図8bは、Hct値測定用のセンサの一例における印加電圧(V)に対する感度差の経時変化のグラフである。

【図9】図9aは、従来のHct値測定用のセンサの一例における印加電圧(V)に対する応答電流値(μA)の経時的変化を表すグラフである。図9bは、従来のHct値測定用のセンサの一例における印加電圧(V)に対する感度差の経時変化のグラフである。

【図10】図10aは、従来のHct値測定用のセンサのその他の例における印加電圧(V)に対する応答電流値(μA)の経時的変化を表すグラフである。図10bは、従来のHct値測定用のセンサのその他の例における印加電圧(V)に対する感度差の経時変化のグラフである。

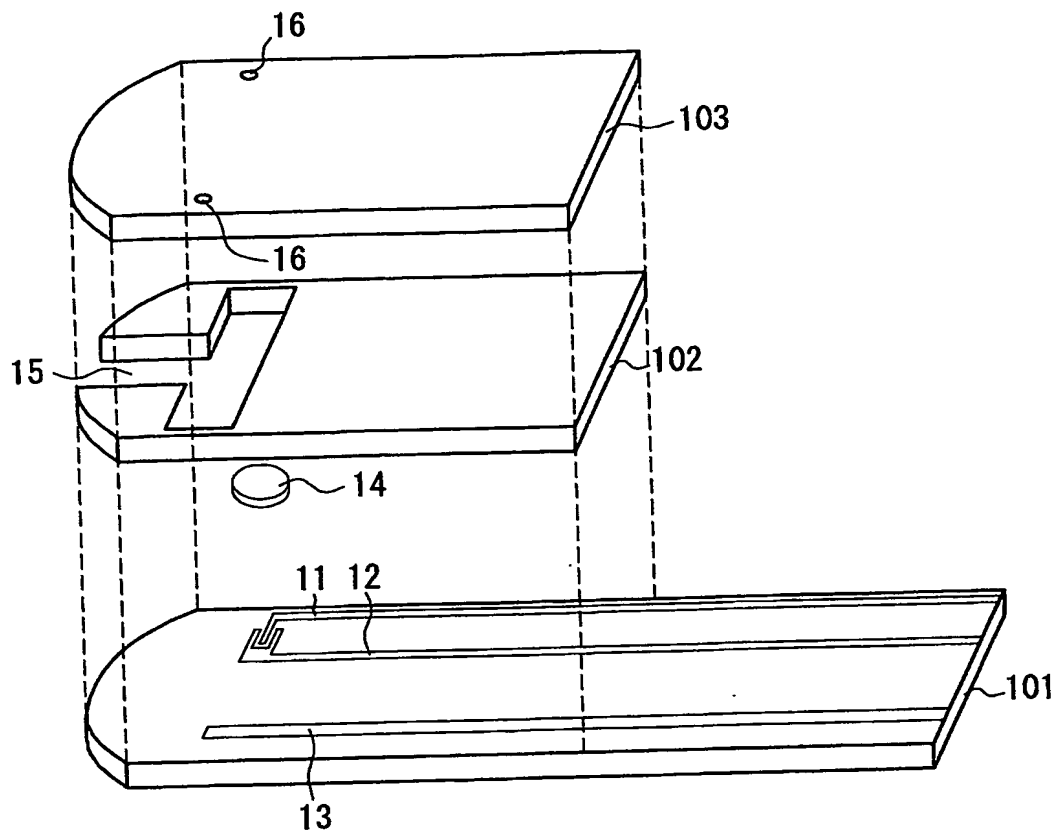
【符号の説明】

【0044】

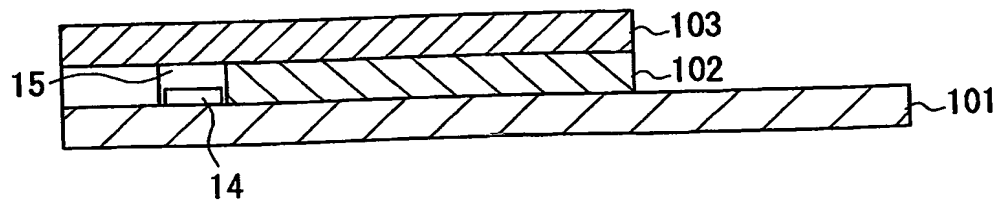
- 11, 12, 13, 21, 22, 23, 24, 81, 82 電極
- 14, 25, 83 試薬部
- 15, 26, 84 流路
- 16, 27, 85 空気抜孔
- 101, 201, 801 絶縁基板
- 102, 202, 802 スペーサー
- 103, 203, 803 カバー

【書類名】 図面

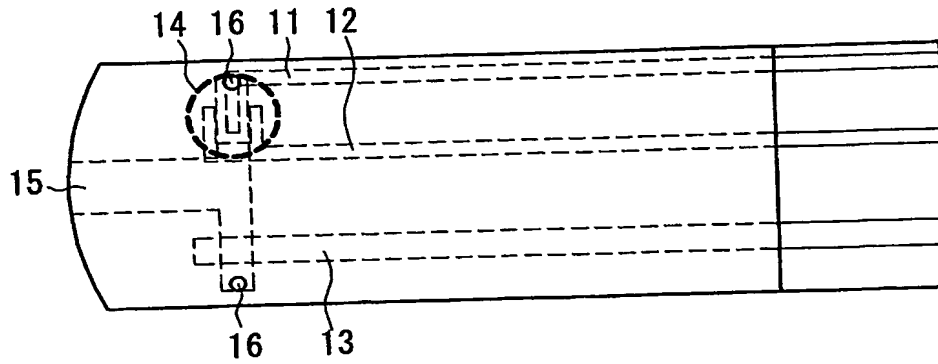
【図 1】



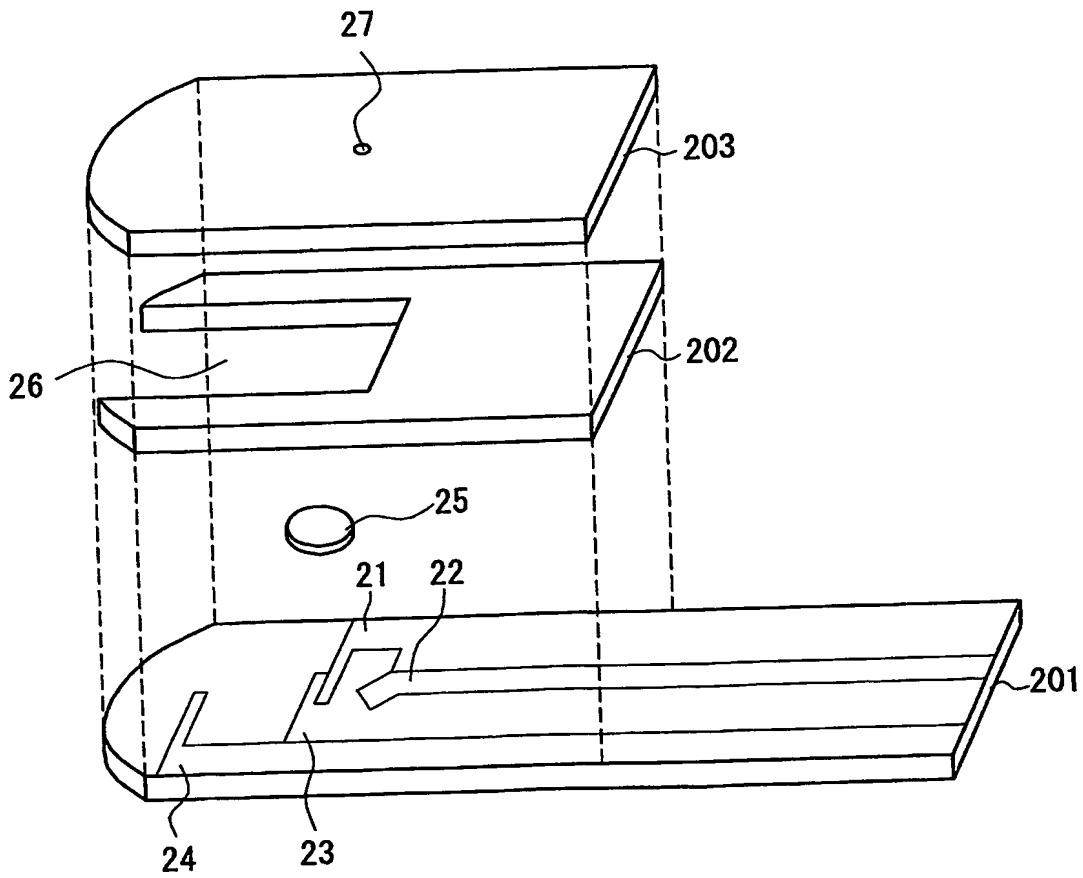
【図 2】



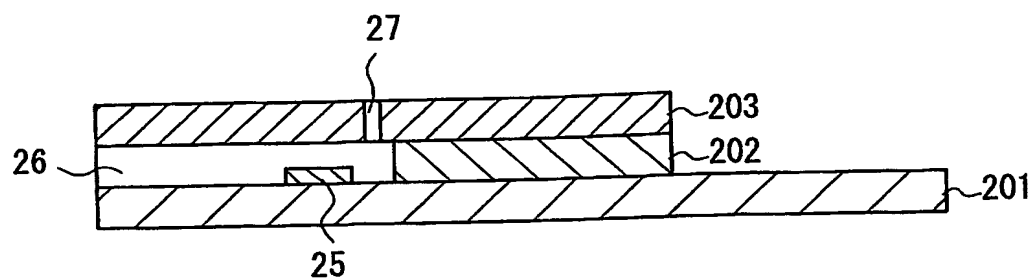
【図 3】



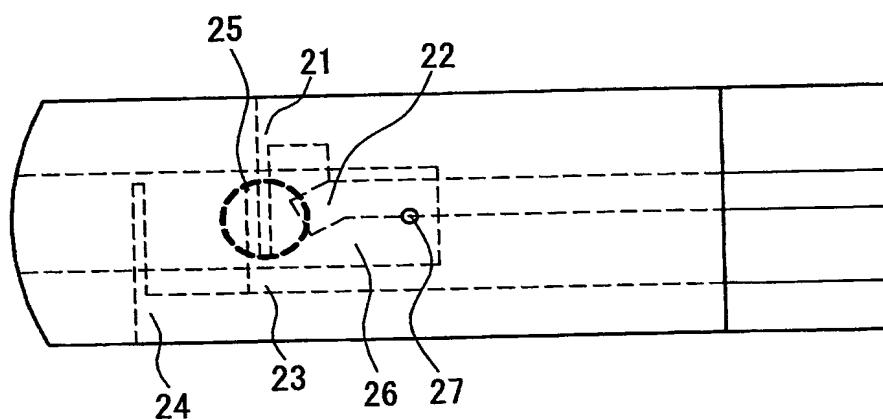
【図 4】



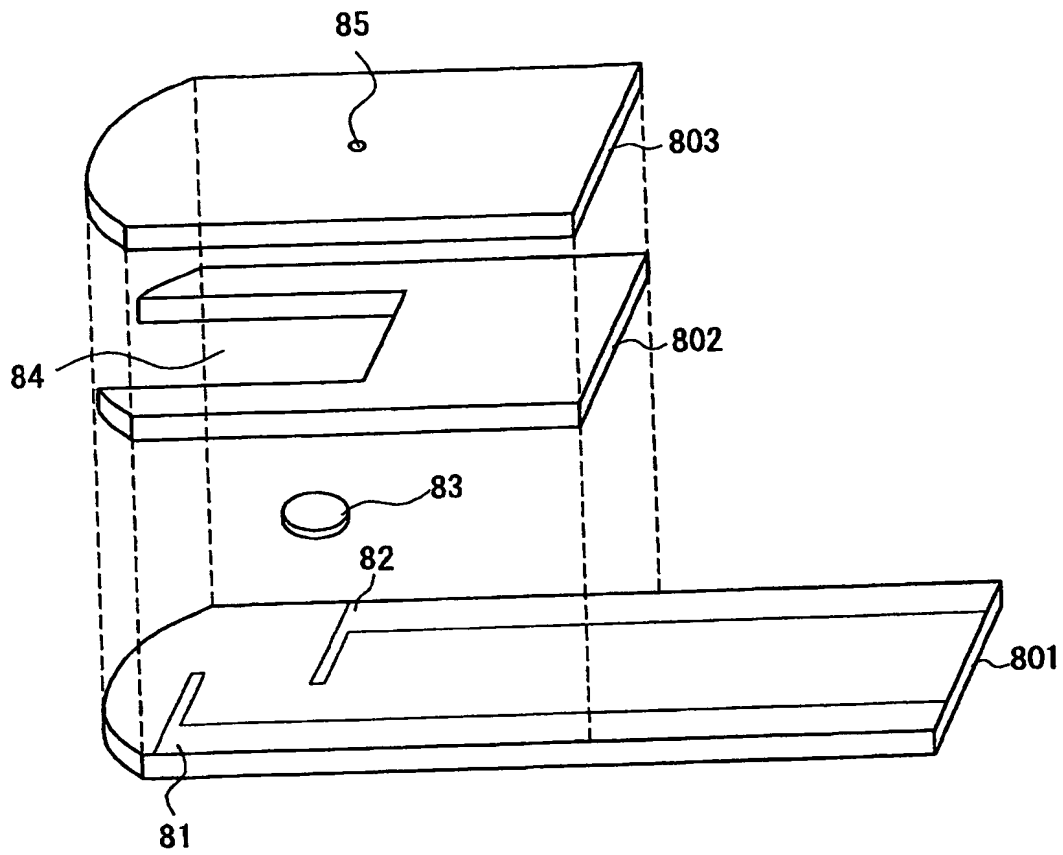
【図 5】



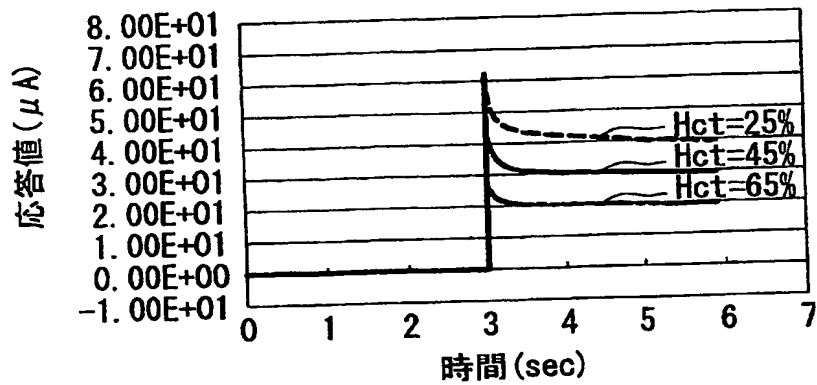
【図 6】



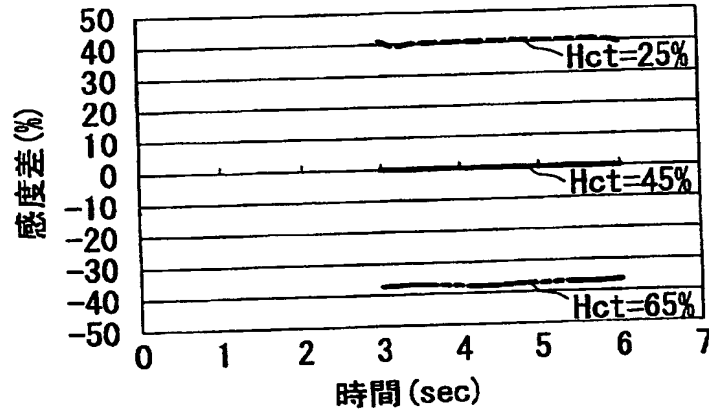
【図 7】



【図 8】

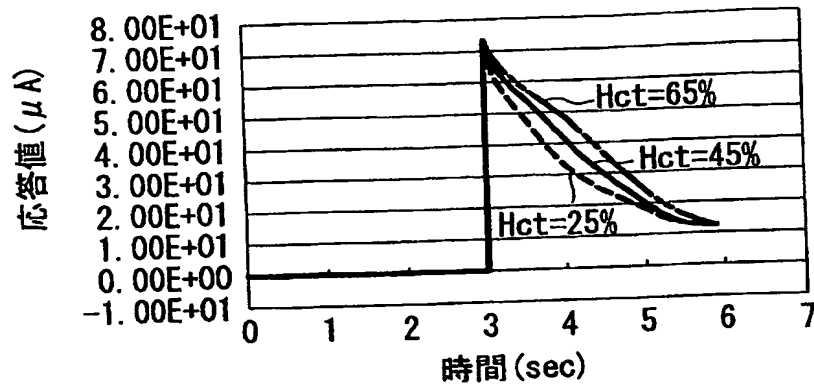


(a)

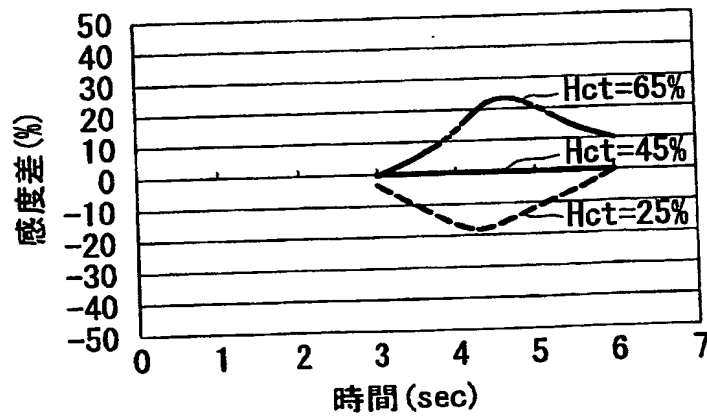


(b)

【図 9】

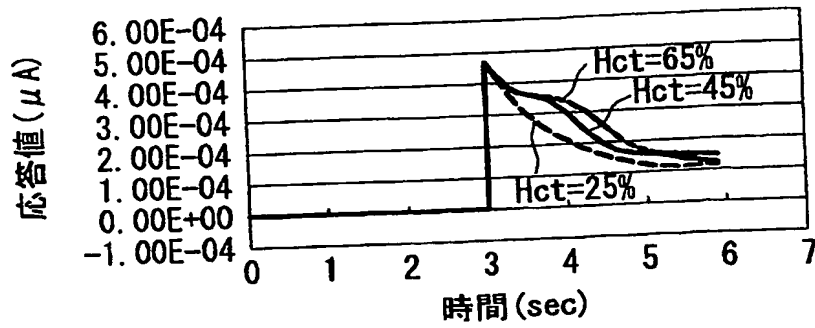


(a)

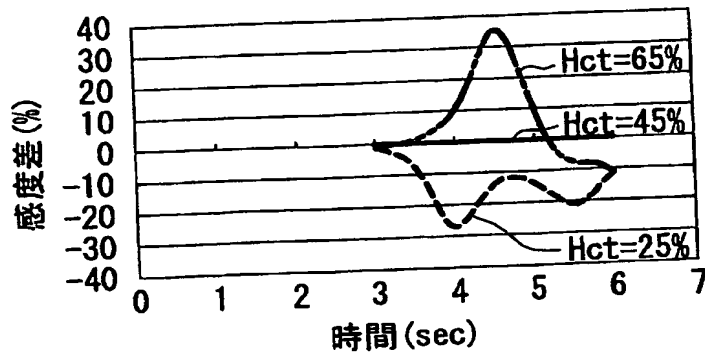


(b)

【図 10】



(a)



(b)

【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 血液のヘマトクリット(Hct)値を高精度及び高信頼性で測定することにより血液成分量を正確に補正可能な血液成分の測定方法及びそれに用いるセンサを提供する。

【解決手段】 血液成分測定用センサにおいて、第1の分析部及び第2の分析部を形成する。前記第1の分析部は、第1の電極系11,12と試薬層14を有し、前記試薬層14は、前記血液成分の酸化還元酵素とメディエータを有する。前記第1の分析部でメディエータの存在下、血液成分を前記酸化還元酵素で酸化還元し、電圧印加した際の酸化還元電流を前記第1の電極11,12で検出して前記血液成分を測定する。前記第2の分析部は、作用電極及び対電極を有し、前記作用電極及び対電極の少なくとも一方の電極上にはメディエータが配置されていない部分が存在し、前記電極系に前記血液を導入し、電圧印加し、これにより流れる電流値を検出することで前記血液のHct値を測定する。このHct値により前記血液成分を補正する。

【選択図】 図1

特願 2 0 0 3 - 4 0 5 4 8 0

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号

[0 0 0 0 0 5 8 2 1]

1. 変更年月日

1 9 9 0 年 8 月 2 8 日

[変更理由]

新規登録

住 所

大阪府門真市大字門真 1 0 0 6 番地

氏 名

松下電器産業株式会社

Document made available under the Patent Cooperation Treaty (PCT)

International application number: PCT/JP04/018020

International filing date: 03 December 2004 (03.12.2004)

Document type: Certified copy of priority document

Document details: Country/Office: JP
Number: 2003-405480
Filing date: 04 December 2003 (04.12.2003)

Date of receipt at the International Bureau: 10 February 2005 (10.02.2005)

Remark: Priority document submitted or transmitted to the International Bureau in compliance with Rule 17.1(a) or (b)



World Intellectual Property Organization (WIPO) - Geneva, Switzerland
Organisation Mondiale de la Propriété Intellectuelle (OMPI) - Genève, Suisse